

Trabalho de Conclusão de Curso

Avaliação do grau de degeneração basofílica do colágeno em queilite actínica

Deiziane de Souza



**Universidade Federal de Santa Catarina
Curso de Graduação em Odontologia**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA**

Deiziane de Souza

**AVALIAÇÃO DO GRAU DE DEGENERAÇÃO BASOFÍLICA DO
COLÁGENO EM QUEILITE ACTÍNICA**

Trabalho apresentado à Universidade
Federal de Santa Catarina, como
requisito para a conclusão do Curso de
Graduação em Odontologia
Orientador: Prof. Dr. Filipe Modolo
Siqueira
Co-orientador: Prof. Dr. Filipe Ivan
Daniel

Florianópolis
2018

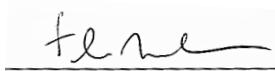
Deiziane de Souza

**TÍTULO: AVALIAÇÃO DO GRAU DE DEGENERAÇÃO
BASOFÍLICA DO COLÁGENO EM QUEILITE ACTÍNICA**

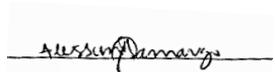
Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado, adequado para obtenção do título de cirurgião-dentista e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 24 de maio de 2018.

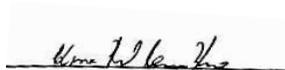
Banca Examinadora:



Prof., Dr. Filipe Modolo Siqueira,
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.^a, Dr.^a Alessandra Rodrigues de Camargo,
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.^a, Dr.^a Elena Riet Correa Rivero,
Membro
Universidade Federal de Santa Catarina

À minha família,
Aos meus pais e irmãs, que
são minha inspiração,
exemplos de força e
perseverança.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela vida! Pelas oportunidades, ensinamentos e pessoas que coloca em meu caminho, para que eu evolua cada dia mais, em mente e espírito. Por ter estado comigo e com minha família em todos os momentos das nossas vidas. É pela fé em Ti que hoje estou aqui realizando um grande sonho da minha vida.

Aos meus pais, **Jaimor** e **Sandra**, e irmãs, **Denise** e **Deise**. Por cada ensinamento, cada conselho, pelos abraços que confortam, pelas boas conversas. Obrigada por sempre acreditarem em mim. Me ensinaram a caminhar com fé, dedicação e responsabilidade; me ensinaram a levantar, mesmo quando a vida insistir em derrubar. Agradeço por ter vocês em minha vida. Juntos somos capazes de enfrentar qualquer adversidade, com força e fé. Além de tudo isso, estão sempre comigo, dando todo o apoio e o que for necessário para me ver feliz. Sou eternamente grata! Tudo o que sou hoje devo a vocês. Agradeço também aos meus cunhados **Cris** e **Paulinho**, pelo carinho e apoio nas minhas realizações. Pelo cuidado que têm comigo, como verdadeiros irmãos. À minha sobrinha, meu amor incondicional, **Beatriz**, minha fonte de inspiração e aprendizado todos os dias.

Ao colega de turma, **Ângelo**, pelas conversas, por ouvir minhas angústias; obrigada por todos os momentos juntos, pelos sorrisos, pelas noites desesperadas de estudos, conselhos. Obrigada por me mostrar que a vida não é tão difícil quando parece, e que otimismo e pensamento positivo são a chave para tudo. Não posso deixar de agradecer também ao **Tales** e à **Rosangela**, minha família espiritual, por todo amor e carinho a mim depositados.

Às minhas **amigas**. Obrigada por todos os momentos que passamos juntas. Pelas risadas, pelos choros, pelas conversas jogadas fora; pelas palavras de conforto; pelas tardes e noites de estudo (com e sem sucesso), pelas noites de comilança sem fim; pelas tentativas frustradas de ser fitness. Não tenho palavras pra agradecer. Como é bom ter amigos! Vocês, sem dúvida, tornam meus dias mais leves e felizes... e que assim seja para o resto de nossas vidas!

Ao meu orientador, **Filipe Modolo Siqueira**, por toda sua dedicação e paciência comigo. Sempre disposto a tirar minhas (intermináveis) dúvidas sempre com bom humor e simpatia. Por me ensinar que, para fazermos qualquer coisa nessa vida, temos que depositar dedicação e responsabilidade. Grata pela tua compreensão e apoio, até nos momentos mais difíceis. Obrigada por confiar em mim!

Ao meu co-orientador, **Filipe Ivan Daniel**, por sua confiança, apoio e incentivo.

À **Manú Chrun**, o anjo que apareceu na minha vida! Faltam palavras pra agradecer toda dedicação que depositaste no meu trabalho. Obrigada por todos os ensinamentos, pela paciência para explicar todos os detalhes e tirar minhas dúvidas. Obrigada pelas manhãs, tardes e noites destinadas à confecção desse trabalho; por todas as conversas, especialmente aquelas sobre a vida. Por dividir as angústias e medos, mas também a alegria. Por estar sempre de bem com a vida, mesmo nas dificuldades. Você é exemplo de profissional e pessoa; de bondade e perseverança. Me ensinou a ver sempre o lado bom das coisas; o que podemos aprender com os erros e dificuldades durante nossa jornada. Obrigada por tudo!

À professora **Elena Riet Correa Rivero**, que com sua confiança no meu trabalho, incentivo e carinho, me abriu muitas portas. Você é o exemplo de pessoa e profissional que levarei para toda a vida.

À professora **Alessandra Rodrigues de Camargo**, com quem dividi minhas angústias e ansiedades, por todos os ensinamentos, dedicação e incentivo! Gratidão por todos os conselhos, pelas conversas, risadas! Por me mostrar que sempre existe algo bom que podemos aprender, nos momentos bons e ruins. E que mesmo nos piores momentos das nossas vidas a regra é “respira e não pira”, a qual levarei para sempre na minha vida! Obrigada por tornar nossos dias e nosso caminho mais leve. Sem dúvidas você é uma grande inspiração na minha vida!

Ao **Laboratório de Patologia Bucal-UFSC**, por ser a morada para tantos conhecimentos, além de permitir a realização desta pesquisa.

A todos do **Hospital Universitário**, colegas, professores, residentes, funcionários, pelo acolhimento, por todos os aprendizados, experiências, por fazer parte dos meus dias e poder torná-los tão gratificantes e felizes. Todos vocês fazem com que eu ame cada dia mais a Odontologia Hospitalar!

Aos meus professores, **Eduardo Bortoluzzi, Etiene Munhoz, Augusto Bodanezi, Thaís Mageste, Liliane Grando, Maria Inês Meurer**, por tantos ensinamentos, por permitirem que eu ame cada dia mais minha futura profissão. Levarei para sempre seus ensinamentos.

“A persistência é o caminho do êxito”.

(Charles Chaplin)

RESUMO

Objetivo: Quantificar, através de um programa de imagem, a área de degeneração basofílica do colágeno (DBC) presente na lâmina própria das lesões de queilite actínica (QA) e relacionar com o grau de displasia epitelial dessa doença.

Materiais e métodos: Foram utilizados 30 casos de QA do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal (LPB/UFSC), classificados de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) e classificação binária, com os quais procedeu-se a análise dos dados clínicos e histopatológicos. A análise dos dados clínicos deu-se através da coleta das seguintes informações presentes nas fichas de biópsia: gênero, idade e etnia. A análise histopatológica deu-se a partir da captura de imagem por varredura dos fragmentos presentes nas lâminas coradas em H&E por meio de uma câmera digital acoplada a um microscópio de luz em magnificação de 100X utilizando o processador de imagem *Image Pro-Plus 7.01*. Os dados foram analisados através do software *Image J* calculando a média de porcentagem da área de degeneração basofílica (pixels positivos) em relação à área total da lâmina própria (pixels totais), sendo removida da imagem a porção referente ao epitélio e a submucosa.

Resultados: Com relação às características clínicas dos pacientes do estudo, 33% eram do sexo feminino e 67% do sexo masculino, com média de idade de $55,73 \pm 12,38$ anos (média \pm desvio padrão), sendo todos de etnia leucoderma. Com relação às características histopatológicas segundo a classificação da OMS, dos 30 casos de QA, 11 apresentaram displasia epitelial leve (DEL), 13 displasia epitelial moderada (DEM) e apenas 6 displasia epitelial intensa (DEI). Utilizando a classificação binária, 23 apresentaram “alto risco” (AR) e 7 “baixo risco” (BR). A média da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial segundo a OMS foi de 17,43% ($\pm 17,72$) para DEL, 19,97% ($\pm 16,64$) para DEM e 33,86% ($\pm 20,75$) para DEI ($p=0,210$). Levando em consideração a classificação binária, a média de área de DBC foi de 24,17% ($\pm 20,06$) nos casos que apresentaram AR e 14,10% ($\pm 7,57$) para BR, ($p=0,364$).

Conclusões: Observou-se que na avaliação quantitativa de DBC em QA houve um aumento da área média da DBC com o aumento do grau de displasia epitelial, segundo a classificação da OMS e classificação binária, embora não haja resultados estatisticamente significativos.

Palavras-chave: queilite actínica, degeneração basofílica do colágeno

ABSTRACT

Objective: To quantify, through an imaging program, the area of basophilic degeneration of collagen (BDC) present in the lamina propria of actinic cheilitis (AC) lesions and to relate to the degree of epithelial dysplasia of this disease.

Materials and methods: 30 cases of AC were selected from the Biobank of the Laboratory of Oral Pathology and the clinical and histopathological data were analyzed. The analysis of the clinical data included the following information present in the biopsy files: gender, age and ethnicity. Histopathological analysis was performed by scanning the fragments present on H&E stained slides by means of a digital camera coupled to a light microscope in magnification of 100X using the Image Pro-Plus 7.01 image processor. Data were analyzed using the Image J software, calculating the mean of the basophilic degeneration area (positive pixels) in comparison to the total area of the lamina propria (total pixels), the epithelium and the submucosa were removed from the image.

Results: Of the 30 patients studied, 33% were female and 67% were male, with a mean age of 55.73 ± 12.38 years (mean \pm standard deviation), all the patients were leucoderma. Regarding the histopathological characteristics according to the WHO (World Health Organization) classification, of the 30 cases of AC, 11 presented mild epithelial dysplasia (MiED), 13 moderate epithelial dysplasia (MoED), and only 6 intense epithelial dysplasia (IED). According to the Binary classification, 23 presented "high risk" (HR), and 7 "low risk" (LR). The DBC mean area in comparison to the degree of epithelial dysplasia according to WHO was 17.43% (± 17.72) for MiED, 19.97% (± 16.64) for MoED and 33.86% (± 20.75) for IED ($p=0.210$). Taking into consideration the binary classification, the mean DBC area was 24.17% (± 20.06) in cases that presented HR and 14.10% (± 7.57) for LR, ($p=0.364$).

Conclusions: It was observed that in the quantitative evaluation of BDC in AC, there was an increase in the mean area of BDC with the increase of the degree of epithelial dysplasia according to WHO classification and binary classification, although there were no statistically significant results.

Keywords: actinic cheilitis, basophilic degeneration of collagen

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Cortes histológicos obtidos por varredura..... 42
- Figura 2** - Imagens histológicas de queilite actínica (QA) coradas em H&E e obtidas por meio de varredura dos fragmentos presentes nas lâminas.....45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características dos pacientes do estudo.....	43
Tabela 2- Distribuição média da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial segundo OMS	43
Tabela 3- Distribuição média da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial segundo classificação binária	44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UV – Ultravioleta
QA – Queilite Actínica
DBC – Degeneração Basofílica do Colágeno
HPV – Vírus do Papiloma Humano
CEL – Carcinoma Epidermoide de Lábio
OMS – Organização Mundial da Saúde
DEL – Displasia Epitelial Leve
DEM – Displasia Epitelial Moderada
DEI – Displasia Epitelial Intensa
AR – Alto Risco
BR – Baixo Risco
FPS – Fator de Proteção Solar
CO₂ - Dióxido de Carbono
5-FU – 5- Fluorouracil
PDT – Terapia Fotodinâmica
BD – Bem Diferenciado
MD – Moderadamente Diferenciado
PD – Pouco Diferenciado
MMPs – Metaloproteinases de Matriz
MFs – Miofibroblastos
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina
LPB – Laboratório de Patologia Bucal
SAP – Serviço de Anatomia Patológica
HU – Hospital Universitário
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
CEPSH – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
HE – Hematoxilina e Eosina
ICC – Coeficiente de Correlação Intraclases

LISTA DE SÍMBOLOS

- % - Por cento
- μm – Micrômetros
- $^{\circ}\text{C}$ – Graus Celsius
- ® - Marca Registrada

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 QUEILITE ACTÍNICA (QA)	17
2.1.1 <i>Etiologia.....</i>	17
2.1.2 <i>Epidemiologia</i>	18
2.1.3 <i>Características clínicas.....</i>	19
2.1.4 <i>Características histopatológicas</i>	21
2.1.5 <i>Tratamento.....</i>	22
2.2 CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÁBIO (CEL)	23
2.3 INFLUÊNCIA DO ESTROMA EM QA E CEL.....	24
2.4 DEGENERAÇÃO BASOFÍLICA DO COLÁGENO (DBC)	25
3. OBJETIVOS.....	27
3.1 OBJETIVO GERAL.....	27
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
4. METODOLOGIA.....	28
4.1 DELINEAMENTO DE ESTUDO	28
4.2 ASPECTOS ÉTICOS E LEGAIS	28
4.3 LOCAL DA REALIZAÇÃO DO ESTUDO	28
4.4 AMOSTRA	28
4.4.1 <i>Seleção da amostra</i>	28
4.4.2 <i>Critérios de inclusão.....</i>	28
4.4.3 <i>Critérios de exclusão.....</i>	29
4.5 PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS.....	29
4.5.1 <i>Preparo das lâminas histológicas:</i>	29
4.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	30
4.6.1 <i>Análise dos dados clínicos.....</i>	30
4.6.2 <i>Calibração dos examinadores.....</i>	30
4.6.3 <i>Análise dos espécimes</i>	30
4.6.4 <i>Análise estatística.....</i>	31
5. RESULTADOS	32
6. DISCUSSÃO.....	35
7. CONCLUSÃO	38

REFERÊNCIAS.....	39
ANEXO A – ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO.....	47
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	48
ANEXO C – PARECER CONSUBSTANCIADO.....	54

1. INTRODUÇÃO

A exposição crônica aos raios solares contribui para o desenvolvimento de alterações degenerativas no tecido conjuntivo, especialmente nas fibras elásticas¹. A radiação ultravioleta (UV) é uma importante causa de alterações teciduais, resultante de uma cadeia de eventos que é iniciada com o dano no DNA das células². Esse tipo de radiação provoca danos fotoquímicos que, se persistentes, podem levar ao câncer de pele. Além disso, tal radiação possui propriedades capazes de interferir no bom funcionamento dos processos biológicos, atuando nas células do sistema imune, prejudicando a resposta imunológica contra antígenos neoplásicos e, dessa forma, favorecendo a carcinogênese³. Juntamente com a melanina, o caroteno e o ácido hialurônico, o DNA tem afinidade pela radiação UVB e essa afinidade pode facilitar a ocorrência de mutações⁴.

A queilite actínica (QA) é uma condição potencialmente malignizável resultante da exposição prolongada e excessiva à radiação UV, que pode levar a alterações fenotípicas e genotípicas das células epiteliais, genericamente chamadas de atípicas ou displasias epiteliais, associadas a um aumento do risco para desenvolvimento do carcinoma epidermoide⁵.

A degeneração basofílica do colágeno (DBC) é uma alteração estrutural das fibras colágenas e elásticas do tecido conjuntivo presente em QA, representada histologicamente por alteração basofílica amorfa e acelular dessas estruturas, sendo um importante indicador de dano tecidual causado pela luz UV⁶. A mensuração da DBC pode ser utilizada como indicador primário para medir a quantidade de exposição ao sol através da análise de imagens, como proposto por Moon e Oh (2001)⁷, sugerindo ser uma importante ferramenta para o melhor entendimento de sua possível relação com os processos de carcinogênese⁸.

O presente estudo tem como objetivo quantificar, através de um programa de imagem, a área de DBC na lâmina própria das lesões de QA e relacionar com grau de displasia epitelial, tendo em vista que ainda são escassos os estudos que avaliam a relação entre o grau de DBC com alterações epiteliais dessa doença.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Queilite Actínica (QA)

QA é uma lesão potencialmente malignizável, ou seja, que apresenta um risco aumentado de crescimento celular desordenado e de transformação em câncer, resultante da exposição crônica e prolongada à radiação UV^{9; 10}.

Trata-se de um problema que acomete predominantemente pessoas de pele clara com tendência a apresentar queimaduras com facilidade quando expostas ao sol. Ocupações profissionais com exposição ao ar livre claramente estão associadas a esse problema, o que leva à utilização dos termos de uso popular como “lábio de fazendeiro” ou “lábio de marinheiro”¹¹.

Esta lesão é semelhante à queratose actínica, doença cutânea potencialmente malignizável também relacionada à exposição crônica e excessiva à radiação UV¹¹. No entanto, a epiderme, por possuir melanina e espessa camada de queratina, proporciona uma proteção natural contra os efeitos nocivos da radiação UV, já o lábio, por ser semimucosa, apresenta camada córnea mais delgada e menor quantidade de melanina quando comparado à pele, o que faz com que seja mais vulnerável aos efeitos nocivos da radiação UV. A QA, diferentemente da queratose actínica, tem 2,5 vezes mais risco de progressão para o carcinoma epidermoide¹².

2.1.1 Etiologia

A exposição solar crônica está bem estabelecida na literatura como sendo o principal agente etiológico para QA, levando a danos cumulativos e irreversíveis aos lábios^{1; 13; 14}. A luz solar, especialmente a radiação UV, é um importante fator de risco para a inflamação da pele, bem como alterações imunes, envelhecimento precoce e, acima de tudo, o principal fator de risco para o câncer de pele¹⁵.

A exposição crônica à radiação UV pode levar à alterações genótípicas e fenotípicas das células epiteliais, genericamente chamadas de atipias ou displasias epiteliais, que podem ser consideradas alterações potencialmente malignas por estarem associadas a um aumento de 10 a 20% do risco para desenvolvimento do carcinoma epidermoide⁵. Dentre estas alterações moleculares envolvidas no processo de carcinogênese,

destacam-se as alterações no ciclo celular e nos mecanismos de apoptose¹⁶.

A radiação UV tem efeitos sobre numerosos processos moleculares que danificam os tecidos superficiais, especialmente o tecido conjuntivo. Esses processos incluem receptores de superfície celular, transdução de sinal, fatores de transcrição e envolvimento de enzimas na síntese e degradação dérmica. A ativação inicial desse processo é induzida pela geração de espécies reativas de oxigênio, que danificam diretamente o DNA, a membrana e algumas proteínas celulares¹⁵.

Os danos causados na pele são geralmente associados à radiação UVB e UVA. A primeira é caracterizada como um agente mutagênico e indutor de câncer devido aos danos diretos ao DNA das células. A radiação UVA tem, por sua vez, uma maior taxa de penetração, atinge as camadas mais íntimas da pele e é associada principalmente ao estresse oxidativo, embora estudos recentes também indicaram um papel no desenvolvimento do câncer de pele¹⁷.

2.1.2 Epidemiologia

A prevalência de QA na população em geral varia de 0,45% a 2,4%. Dentro dos estudos que investigaram populações que exercem trabalho ao ar livre, a prevalência de QA variou de 4,2 a 43,2%¹⁸.

A QA é mais prevalente entre homens, numa relação homem-mulher variando de 1,5:1 a 4:1. As mulheres parecem ter menor risco para desenvolver a doença, uma vez que exercem menos atividades ao ar livre, além de utilizarem produtos protetores nos lábios, como batom ou bloqueador solar¹⁹.

Os pacientes podem desenvolver a doença em qualquer idade, mas a prevalência máxima é observada entre a quarta e quinta década de vida, com idade variando desde 50,6 a 64,3 anos. Estudos mostraram que indivíduos com idade acima de 37 anos exibem 1,9 vezes mais QA que os jovens¹⁹.

Em uma pesquisa feita em Natal (2010) com trabalhadores de praia, foram avaliadas 362 pessoas, das quais 56 (15,5%) foram diagnosticadas com QA. Semelhante à literatura, foram encontradas nesse estudo lesões em homens com idade maior que 37 anos e pele clara. A maioria dos entrevistados usava como proteção chapéu ou boné, porém 57,9% e 82,5% disseram não usar protetor solar ou labial, respectivamente¹⁹.

Estudos realizados no litoral do sul do estado de Sergipe tiveram como resultados 11,4% de prevalência de QA nos pescadores, sem diferença entre gêneros, com 100% das lesões no lábio inferior²⁰.

Um estudo realizado em Florianópolis (2006) verificou a prevalência de alterações labiais de 111 pescadores, sendo diagnosticados 48 casos de QA. Em relação à etnia, 92,79% eram leucodermas e apenas 7,21% melanodermas. A maioria da amostra era composta por homens, sendo apenas 2,7% mulheres. A média de idade dos participantes da amostra foi de 47,73 anos e mais de 80% dos pescadores ficavam mais de 6 horas expostos diariamente ao sol²¹.

Em sua pesquisa, Papaleo (2016)²² avaliou a prevalência da QA em 364 atletas que participaram do Ironman 2015 em Florianópolis. Nesse estudo, a prevalência de QA foi de 43,7%, sendo a amostra composta, na sua maioria, pelo gênero masculino (90,38%), com idade superior a 36,7 anos, leucodermas, sujeitos à exposição solar ocupacional. Os atletas demonstraram baixo grau de conhecimento a respeito dos riscos do desenvolvimento de lesões potencialmente malignas frente à exposição excessiva de radiação solar, sendo que apenas 15,10% utilizavam protetor solar labial durante treinos ao ar livre.

2.1.3 Características clínicas

Clinicamente, a QA apresenta atrofia e ressecamento da semimucosa labial, escurecimento ou perda da nitidez da linha mucocutânea, descamação constante e até a formação de ulcerações^{13; 19; 23; 24; 25}.

Marques *et al.* (2010)²⁶ elaboraram uma gradação clínica para a QA, a partir das seguintes características:

- 1- Eritema: mancha vásculo-sanguínea produzida por vasodilatação;
- 2- Descamação: perda tecidual caracterizada por massa furfurácea que se desprende da superfície;
- 3- Fissuração: perda de substância linear, superficial ou profunda, disposta perpendicularmente ao maior eixo do lábio;
- 4- Infiltração: aumento da consistência do lábio a palpação;
- 5- Atrofia: aspecto de afinamento do vermelhão, com superfície brilhante;
- 6- Ulceração: perda tecidual superficial;

7- Crosta: concreção de coloração amarelada ou avermelhada resultante de dessecação de líquidos e restos epiteliais;

8- Leucoqueratose: placa esbranquiçada discretamente elevada, não removível mecanicamente;

9- Linha: intensidade da perda de nitidez da linha de transição entre o vermelhão do lábio e a pele;

10- Vermelho/Branco: aspecto mosqueado vermelho e branco do lábio.

A lesão desenvolve-se tão lentamente que os pacientes com frequência não estão cientes dessa condição. As alterações clínicas mais precoces incluem a atrofia da borda do vermelhão do lábio inferior, caracterizada por uma superfície lisa e áreas de manchas pálidas. À medida que a lesão progride, áreas hiperqueratóticas desenvolvem-se nas porções mais secas do vermelhão labial. Essas áreas tornam-se espessas e podem se assemelhar a lesões leucoplásicas, especialmente quando se estendem para próximo da linha úmida do lábio. Com a progressão, ulceração crônica focal pode se desenvolver em um ou mais sítios. Tais ulcerações podem permanecer por meses e frequentemente sugerem progressão para um carcinoma epidermoide de lábio (CEL)¹¹. A frequência com a qual a displasia evolui em CEL ainda é controversa na literatura, algumas estimativas variam de 1,4% a 36% de chances em um intervalo de 1 a 30 anos¹⁰.

Ainda que a lesão seja caracterizada por ter progressão lenta e assintomática, Cavalcante, Anbiner e Carvalho (2008)¹³ relataram, através do estudo das características clínicas e histopatológicas de QA, a presença de sintomas como queimação e prurido em 34,48% dos indivíduos analisados.

Apesar da prevenção e diagnóstico clínico precoce serem relativamente fáceis, vários fatores são atribuídos ao diagnóstico tardio de QA, sendo eles: desconhecimento sobre a lesão, ausência de sintomatologia, aparência clínica inofensiva e falta de conhecimento por parte de muitos profissionais que consideram a QA como um simples processo inflamatório. Como existem episódios agudos da ocorrência da condição seguida de remissão dos sinais e sintomas, muitos pacientes associam suas alterações nos lábios à sua ocupação, não os identificando como uma doença crônica importante e com grande potencial para se tornar câncer¹⁰.

2.1.4 Características histopatológicas

Histologicamente, a QA é caracterizada por um epitélio de revestimento ora atrófico ora acantótico, com graus variados de displasia epitelial ou ausência da mesma, frequentemente demonstrando uma marcante produção de ceratina^{11; 25}.

Nas displasias epiteliais, as seguintes alterações arquiteturais e citológicas estão presentes segundo a OMS²⁸:

Alterações arquiteturais:

- Cristas epiteliais em formato bulbar ou em forma de gota
- Alteração da polarização nuclear das células da camada basal
- Pérolas de ceratina
- Perda da coesão típica entre as células epiteliais

Alterações citológicas:

- Células e núcleos aumentados
- Nucléolos grandes e proeminentes
- Relação núcleo-citoplasma alterada
- Núcleos hipercromáticos
- Células e/ou núcleos pleomórficos
- Disceratose
- Atividade mitótica aumentada
- Figuras de mitose anormais

Segundo a mais recente classificação dos tumores de cabeça e pescoço da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2017)²⁸, as displasias epiteliais, quando presentes em um epitélio alterado, podem ser classificadas em:

1. Displasia Epitelial Leve (DEL): quando as alterações celulares e arquiteturais estão restritas ao terço inferior do epitélio;
2. Displasia Epitelial Moderada (DEM): quando as alterações celulares e arquiteturais se estendem até o terço médio do epitélio;
3. Displasia Epitelial Intensa (DEI): demonstra alterações que ultrapassam o terço médio do epitélio e estendem-se pelo terço superior. Segundo a mais recente classificação da OMS, esse grau de displasia é considerado sinônimo do carcinoma *in situ*^{11; 28}.

Além da classificação da OMS, pode ser utilizada a classificação binária²⁹, que categoriza a displasia em dois grupos:

1. Alto Risco (AR): quando observam-se pelo menos quatro mudanças arquiteturais e cinco alterações citológicas.
2. Baixo Risco (BR): quando observam-se menos de quatro mudanças arquiteturais ou menos do que cinco alterações citológicas.

A lâmina própria mostra DBC com alterações irreversíveis nas suas fibras colágenas e elásticas induzidas pela radiação UV^{9; 11; 24} e, comumente, observa-se um infiltrado inflamatório crônico adjacente ao epitélio displásico. Tal processo inflamatório mostra intensidade variando de leve a intensa, composto predominantemente por linfócitos, mas também com participação distinta de plasmócitos e eosinófilos¹⁰.

A atipia dos queratinócitos é o mais importante aspecto dessa lesão e gradualmente se instala no epitélio. Diferentes graus de displasia epitelial podem ser encontrados, e o risco para a transformação maligna aumenta proporcionalmente ao aumento do grau de displasia. De acordo com Kaugars *et al.* (1999)²⁷, é essencial que o grau de displasia epitelial seja determinado juntamente com o diagnóstico histopatológico da QA.

2.1.5 Tratamento

Idealmente, o melhor manejo da QA seja a não exposição prolongada e exagerada à luz solar. Entretanto isso é difícil de alcançar, visto que, geralmente, faz parte da ocupação dos indivíduos acometidos. Por esta razão, a conduta profilática como o uso de chapéu de abas largas e uso de fator de proteção solar (FPS) labial deve ser utilizada para evitar ou minimizar a radiação na face e lábios^{30; 31}.

O tratamento da QA é amplamente baseado na gradação histológica da displasia epitelial e as características clínicas devem complementar a opção terapêutica. Em estágios iniciais sem alteração ou que apresentem DEL recomenda-se a utilização de filtro solar e hidratante labial para prevenir maiores agravos. Os pacientes com QA devem utilizar FPS 15 ou mais em todo momento que estiverem expostos ao sol, reaplicando várias vezes ao dia. Áreas de placas brancas, espessamento, endurecimento e ulceração devem ser submetidas à análise histopatológica para excluir a possibilidade de carcinoma epidermoide¹¹;

Em casos mais graves, a vermelhectomia pode ser indicada¹¹. É um procedimento cirúrgico para remoção parcial ou total do vermelhão do lábio, principalmente inferior. A técnica geralmente envolve a

remoção do tecido danificado acima do plano do músculo orbicular da boca, cobrindo o ferimento com mucosa labial interna saudável. A técnica acompanha efeitos adversos significativos, como formação de hematomas, eritema prolongado, edema e restrição do movimento da boca^{12; 32}.

A vermelhectomia a laser com o uso de dióxido de carbono (CO₂) também tem sido associada com o tratamento clínico da QA, tendo alcançado bons resultados. Entretanto, ainda está associada à dor pós-operatória, edema, período prolongado de cicatrização, despigmentação transitória, cicatrizes e parestesias¹².

Terapias não invasivas, como aplicação tópica de 5-Fluorouracil (5-FU), imiquimode, diclofenaco e mebutato de ingenol foram relatadas na literatura para tratamento de casos leves a moderados, embora possam causar efeitos colaterais como eritema, edema, erosões e ulcerações e falta de adesão do paciente ao tratamento^{12; 33; 34; 35; 36; 37; 38; 39}. O uso da terapia fotodinâmica (PDT) para o tratamento da QA também tem sido reportado em muitos estudos, com resultados promissores^{35; 36}.

Os pacientes necessitam de um contínuo monitoramento clínico e de educação em relação à proteção de seus lábios dos danos provenientes da exposição à radiação UV²⁷.

2.2 Carcinoma Epidermoide de Lábio (CEL)

O CEL é precedido pela QA e, por isso, o perfil do paciente é parecido: normalmente homens, de pele clara, com idade entre a 7^a e 8^a décadas de vida, sendo o lábio inferior mais acometido^{23; 40; 41}.

As características clínicas desta enfermidade são variáveis, dependendo do estágio em que a lesão se encontra. As lesões geralmente são assintomáticas e aparecem, inicialmente, sob a forma de uma úlcera crônica que não cicatriza ou como uma lesão exóftica que, ocasionalmente, possui uma natureza verrucosa^{41; 42; 43}.

Histologicamente, a lesão caracteriza-se pela presença de cordões e/ou ilhas de epitélio neoplásico apresentando pleomorfismo nuclear e celular, hiper cromatismo nuclear, aumento no número de mitoses e mitoses atípicas, entre outras alterações. No estroma observa-se tecido conjuntivo fibroso exibindo DBC e infiltrado inflamatório crônico¹¹.

Segundo a classificação histológica da OMS (2017), os carcinomas epidermóides podem ser graduados em bem diferenciados

(BD), onde as células neoplásicas são muito similares ao epitélio de origem; moderadamente diferenciados (MD), onde existe certo grau de pleomorfismo nuclear e atividade mitótica, com pouca ceratinização; (PD), onde o tecido neoplásico apresenta muitas alterações celulares e arquiteturais, com mínima ceratinização, tornando difícil identificação do tecido de origem^{28: 44; 45; 46;47}.

O estadiamento clínico da doença guia o tratamento do CEL, que consiste na excisão cirúrgica, radioterapia ou a combinação de ambos⁶. Quando comparado com carcinoma epidermoide intra-bucal, o prognóstico para o CEL é bom, com uma taxa de sobrevivência em cinco anos de 95%^{23; 48}.

2.3 Influência do estroma em QA e CEL

A literatura concorda com o papel do microambiente presente no estroma na progressão tumoral. Vários estudos mostram evidências de cooperação ou sinergia entre estroma e câncer. Sendo assim, o estudo do estroma nas lesões de QA é de suma importância, visto que as mesmas apresentam grande potencial para transformação maligna⁴⁹.

As metaloproteinases de matriz (MMPs) são uma família de enzimas proteolíticas envolvidas em várias condições fisiológicas e patológicas, como desenvolvimento embrionário, cicatrização de feridas, inflamação, invasão tumoral e metástase. Nesse contexto, Bianco *et al.* (2015)⁵⁰ estudaram a presença das MMPs 1, 2 e 9 (MMP-1/ MMP-2/ MMP-9) e miofibroblastos (MFs) no estroma de lesões de QA e CEL e concluíram que as MMPs 2 e 9 poderiam afetar o comportamento biológico da QA e CEL, à medida em que poderiam estar envolvidas na progressão de lesão pré-maligna à lesão maligna nos lábios.

Gonçalves *et al.* (2016)⁵¹ avaliaram a expressão de HLA-G, HLA-E e IL-10 (imunossupressores tumorais) em lesões de QA e CEL, correlacionando a expressão dessas proteínas com o grau de displasia epitelial. Os achados desse estudo mostraram uma alta expressão dessas moléculas, desde os estágios iniciais da carcinogênese labial (QA) a estágios avançados da doença (CEL), concluindo que a alta expressão das mesmas poderia fornecer a essas patologias uma capacidade de imunossupressão local, promovendo sua progressão.

2.4 Degeração Basoflica do Colágeno (DBC)

As fibras colágenas são os principais componentes do tecido conjuntivo, conferem resiliência e elasticidade da pele. A elastina é metabolizada por enzimas proteolíticas, incluindo elastases do tipo serina, que são secretadas por neutrófilos, macrófagos, fibroblastos humanos e outros tipos de células. O papel da elastase na patogênese dos distúrbios elastóticos é incerta. As fibras elásticas também são degradadas pelas MMPs, das quais existem pelo menos 23 enzimas diferentes secretadas por uma variedade de tipos celulares⁵².

A perda da elasticidade cutânea é um reflexo direto dos efeitos da radiação UV e leva a alterações na estruturação das fibras elásticas e colágenas. Tipicamente, a pele fotoenvelhecida exibe acúmulo de material elastótico distrófico na derme e também comum nas lesões de QA, conhecido como elastose solar ou DBC^{8; 17}.

A DBC representa uma alteração estrutural presente na lâmina própria e submucosa das lesões de QA causada pelos efeitos da radiação UV, e resultante de um ciclo de degradação das fibras colágenas seguida pela produção de matriz extracelular cuja estrutura se difere da original¹⁷.

Histologicamente observa-se o acúmulo de material basoflico, amorfo, rico em fibras elásticas, além da perda de colágeno maduro, com profundo efeito na integridade funcional desse tecido, resultando na aparência basoflica distinta do colágeno usual⁸. A perda da elasticidade da mucosa, observada clinicamente, é um reflexo dessas alterações que tipicamente exibem um acúmulo de material elastótico distrófico no tecido conjuntivo¹⁷.

A exposição excessiva à radiação UV leva a essa degradação do tecido conjuntivo por alterações quantitativas e qualitativas das células e das proteínas presentes na matriz extracelular⁵³.

O grau de DBC pode ser correlacionado com a quantidade relativa de radiação UV em que a pele fica exposta. Brodtkin, Kapft e Andrade (1969)⁵⁴ apontaram a DBC como sendo um “dosímetro” para quantificar a aparente quantidade de exposição solar na pele.

Nesse contexto, Cho *et al.* (1999)¹ realizaram um estudo que quantificou as fibras elásticas presentes no tecido conjuntivo de lesões de queratose actínica através de um programa computadorizado de análise de imagem histológica. Neste trabalho, os autores relataram haver uma quantidade de fibras elásticas presentes nessas lesões 3,65 vezes maior quando comparadas ao grupo controle, revelando que a exposição crônica à radiação solar pode interferir no metabolismo das fibras elásticas no

tecido conjuntivo. Ainda assim, os mesmos autores mostraram uma relação proporcional entre o grau de displasia epitelial com a área de fibras elásticas, sugerindo que a DBC aumenta de acordo com a quantidade de exposição à radiação UV.

Moon e OH (2001)⁷ quantificaram a DBC em lesões de carcinoma epidermoide de pele, evidenciando um aumento significativo de fibras elásticas comparadas com áreas que não sofreram radiação.

Em 2010, Corbalán-Vélez et al.⁵⁵ mostraram que a presença de DBC em lesões de carcinoma epidermoide de pele parece indicar exposição crônica severa aos raios UV e que a DBC participa da patogênese da doença. Ainda assim, Arnaud et al. (2014)²⁵, através de um estudo retrospectivo de 44 casos de QA, mostrou a presença da DBC em 86% das lesões, reiterando a participação da exposição solar crônica nos danos causados no tecido conjuntivo.

A presença dessas alterações na QA é muito frequente, sugerindo que o nível de exposição solar seja diretamente proporcional às alterações no epitélio e tecido conjuntivo. Uma vez que o epitélio é a primeira estrutura a receber a influência oncogênica da radiação UV, espera-se que quanto maior o tempo de exposição solar, maior será o envolvimento epitelial e o grau de DBC no tecido conjuntivo^{15; 17; 56}.

Visto que são escassas na literatura pesquisas que quantifiquem a DBC em lesões de QA, o presente estudo tem como objetivo avaliar a possível relação entre a quantidade de DBC com as alterações encontradas no epitélio das lesões de QA, visando possibilitar um melhor entendimento dos efeitos da radiação solar nessa lesão e no processo de carcinogênese.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Quantificar, através de um programa de imagem, a área de DBC na lâmina própria das lesões de QA e relacionar com grau de displasia epitelial.

3.2 Objetivos Específicos

- Quantificar a área de DBC na lâmina própria de lesões de QA;
- Relacionar a área de tecido degenerado com o grau de displasia epitelial das lesões de QA, segundo a classificação da OMS²⁸ e segundo a classificação binária²⁹.
- Identificar as características clínicas dos pacientes portadores dessa condição.

4. METODOLOGIA

4.1 Delineamento de estudo

O estudo proposto é do tipo observacional descritivo retrospectivo.

4.2 Aspectos éticos e legais

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Universidade federal de Santa Catarina (UFSC) sob o parecer número 2.079.145 e CAAE número 67843617.8.0000.0121.

4.3 Local da realização do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Pesquisa do Programa de Pós-Graduação em Odontologia - UFSC.

4.4 Amostra

Para a presente pesquisa, foi selecionada amostra por conveniência a partir do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal (LPB/UFSC).

4.4.1 Seleção da amostra

Foram selecionados 30 casos de QA, analisados por 3 observadores experientes para confirmar, por consenso, os diagnósticos e classificar as displasias epiteliais de acordo com a classificação da OMS²⁸ e classificação binária²⁹.

4.4.2 Critérios de inclusão

- Casos que tinham diagnóstico histopatológico de QA de pacientes maiores de 18 anos e que concordaram em participar da pesquisa;
- Blocos que apresentaram quantidade suficiente de material para realização de novos cortes histológicos, quando necessário;

- Espécimes em que foi possível observar toda a extensão da lâmina própria.

4.4.3 Critérios de exclusão

- Espécimes que apresentaram quantidade de material no corte histológico insuficiente para o padrão de mensuração estabelecido;
- Casos onde as lâminas histológicas apresentaram coloração HE insatisfatória e a quantidade de material no bloco de parafina fosse insuficiente para microtomia e preparo de nova lâmina;
- Casos em que houve discordância entre diagnóstico e classificação das lesões perante os avaliadores;
- Casos de pacientes menores de 18 anos e pacientes que não concordaram em participar das pesquisa.

4.5 Procedimentos laboratoriais

4.5.1 Preparo das lâminas histológicas:

Os espécimes, fixados em formol a 10% e emblocados em parafina, foram seccionados a 3 μ m de espessura. Para desparafinização, as lâminas foram mantidas em estufa por 60 minutos a 70°C, seguidas por 20 minutos em xilol a temperatura ambiente, depois reidratadas em grade decrescente de álcool etílico por 15 minutos. As lâminas foram embebidas em hematoxilina por 10 minutos e lavadas 3 vezes em água corrente para remoção dos excessos do corante, seguida pela rápida imersão na solução de hidróxido de amônio e lavagem em água corrente, passando, por fim, em solução de eosina por 6 minutos e desidratação em ordem crescente de álcool etílico por 15 minutos. A fixação do corante e conservação do material deu-se pelo banho em xilol por 15 minutos a temperatura ambiente. Em seguida, as lâminas foram montadas utilizando lamínulas fixadas através de adesivo Tissue Tek[®] (São Paulo, São Paulo/Brasil), sendo então mantidas em estufa a 70°C por 24 horas para a remoção de bolhas residuais e estabilização da lamínula. A limpeza das lâminas deu-se através da retirada dos excessos de adesivo utilizando navalha e fricção com gaze e álcool 70% para remoção de manchas.

4.6 Análise dos dados

4.6.1 Análise dos dados clínicos

A análise dos dados clínicos deu-se através da coleta das seguintes informações presentes nas fichas de biópsia: gênero, idade e etnia.

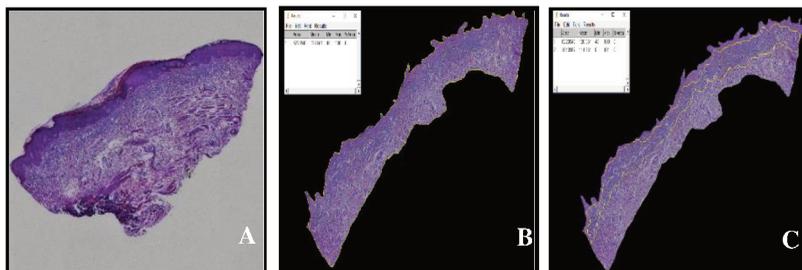
4.6.2 Calibração dos examinadores

Um único examinador foi previamente submetido a uma calibração na qual foram examinados 3 casos, representando 10% da amostra, em dois momentos diferentes com intervalo de uma semana, obtendo o Coeficiente de Correlação Intraclassas (ICC) igual a 1, considerado excelente.

4.6.3 Análise dos espécimes

Foi realizada a captura da imagem por varredura caso através de uma câmera digital (Infinity 1-1M) acoplada a um microscópio de luz (Primo Star – Zeiss) com parâmetro de captura padronizado em magnificação de 100X. As imagens obtidas foram transferidas para um computador através do processador de imagem Image Pro-Plus 7.01. Os dados foram analisados por um examinador previamente calibrado utilizando o software Image J versão 1.410 (National Institute of Health, Bethesda, EUA), que reconheceu as áreas de DBC, delimitando-as e realizando sua mensuração através do software. Nos casos em que havia áreas de degeneração separadas por tecido normal, essas áreas foram somadas. Então, foi realizado o cálculo da média de porcentagem da área marcada (pixels positivos) em relação à área total da lâmina própria (pixels totais), sendo removida da imagem a porção referente ao epitélio e submucosa em cada espécime (Figura 1).

Figura 1. Cortes histológicos obtidos por varredura. A) Corte de queilite actínica. B) Delimitação e mensuração da área total da lâmina própria. C) Delimitação e mensuração da área de degeneração basofílica do colágeno presente no corte histológico.



4.6.4 Análise estatística

Foi realizado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk, com resultado $p=0,02$ determinando-se, portanto, que a distribuição dos dados é não-paramétrica. Assim, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis para avaliar a diferença estatística na média de porcentagem de DBC e o grau de displasia (DEL, DEM e DEI) das lesões de QA, de acordo com a classificação da OMS²⁸. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar a média de porcentagem de DBC no grupo de casos de BR e AR de QA, de acordo com a classificação binária²⁹. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p<0,05$.

A análise dos resultados deu-se através do software de análise estatística IBM SPSS Statistics versão 21 (Statistical Package for the Social Sciences).

5. RESULTADOS

As amostras foram obtidas de 30 pacientes, sendo 33% do sexo feminino e 67% do sexo masculino, com média de idade de $55,73 \pm 12,38$ anos (média \pm desvio padrão), sendo todos de etnia leucoderma. As características dos pacientes envolvidos no estudo são mostradas na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos pacientes do estudo.

Amostra		
	Total	30
Sexo	Feminino	33%
	Masculino	67%
Idade	Média (\pm desvio padrão)	55,73 ($\pm 12,38$)
	Amplitude	26-84

Segundo a classificação da OMS, dos 30 casos de QA, 11 apresentaram DEL, 13 DEM e apenas 6 DEI. Utilizando a classificação binária, 23 apresentaram AR e 7 BR.

A distribuição da média da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial, segundo a classificação da OMS (Figura 2), foi de 17,43% ($\pm 17,72$) para DEL, 19,97% ($\pm 16,64$) para DEM e 33,86% ($\pm 20,75$) para DEI, sendo valor de $p=0,210$, desta forma, não houve diferença estatisticamente significativa na porcentagem de DBC entre os grupos (Tabela 2).

Tabela 2. Distribuição média da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial segundo OMS.

Displasia epitelial (OMS)	N	Mín	Máx	Média	DP
DEL	11	3,52	65,36	17,43	17,72
DEM	13	1,47	61,44	19,97	16,64
DEI	6	8,79	62,12	33,86	20,75

Valor de $p=0,210$. N: número total de casos; Mín: valor mínimo da porcentagem da área de DBC; Máx: valor máximo da área de DBC; Média: média das porcentagens de DBC; DP: desvio padrão.

Levando em consideração a classificação binária, a média de área de DBC foi de 24,17% ($\pm 20,06$) nos casos que apresentaram AR e 14,10% ($\pm 7,57$) para BR, sendo valor de $p=0,364$, desta forma, não houve diferença estatisticamente significativa na porcentagem de DBC entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição média da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial segundo classificação binária.

Displasia epitelial (Classificação binária)	N	Mín	Máx	Média	DP
BR	7	4,74	27,53	14,10	7,57
AR	23	1,47	65,35	24,17	20,06

Valor de $p=0,364$. N: número total de casos; Mín: valor mínimo da porcentagem da área de DBC; Máx: valor máximo da área de DBC; Média: média das porcentagens de DBC; DP: desvio padrão.

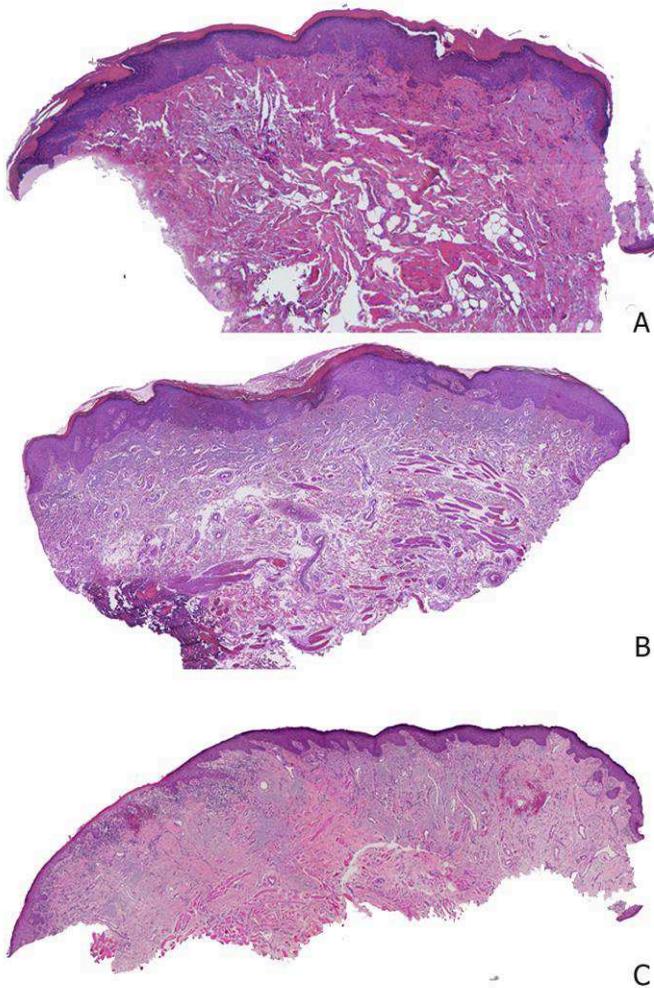


Figura 2. Imagens histológicas de queilite actínica (QA) coradas em H&E e obtidas por meio de varredura dos fragmentos presentes nas lâminas. Aumento de 100x. A: QA com displasia epitelial leve (DEL). B: QA com displasia epitelial moderada (DEM). C: QA com displasia epitelial intensa (DEI).

6. DISCUSSÃO

A exposição crônica aos raios UV é amplamente aceita na literatura como sendo o principal fator etiológico para o desenvolvimento da QA¹. Alguns autores afirmam que quanto mais longo o tempo de exposição, maior a severidade dessas lesões nos indivíduos expostos aos raios UV^{57; 58}. Segundo Markopoulos, Albanidou-Farmaki e Kayavis (2004)²⁴, o índice de malignização da QA pode chegar à 17%; além disso, Martins-Filho *et al.* (2011)⁵⁹ afirmam que 95% dos CEL originam-se da QA.

No presente estudo, 67% dos pacientes da amostra foram do sexo masculino, leucodermas, com média de idade de 55,73 ($\pm 12,38$), concordando com os estudos que citam as características clínicas da QA, mostrando maior acometimento da doença em indivíduos do sexo masculino, leucodermas e com idade superior à 37 anos^{1; 19; 20; 21; 24}.

A exposição cumulativa aos raios UV contribui para o desenvolvimento de alterações degenerativas no tecido conjuntivo das lesões de QA, especialmente as fibras colágenas e elásticas¹. A DBC pode progredir proporcionalmente à quantidade de exposição aos raios UV⁵³.

A natureza da DBC ainda não está totalmente esclarecida. Estudos anteriores sugerem que a exposição crônica à radiação UV pode afetar o metabolismo do colágeno¹⁷. Alguns investigadores sugerem que este material é previamente derivado das fibras elásticas e não de colágeno pré-existente^{17; 60}. Segundo Da Silva *et al.* (2006)⁵⁶ este processo é caracterizado por degeneração das fibras colágenas e substituição da matriz extracelular por uma rede de material elástico alterado.

São escassos na literatura estudos que quantifiquem a DBC. Até o momento, este é o primeiro estudo que quantificou a DBC nas lesões de QA, pois as pesquisas existentes utilizaram como amostra lesões de pele, como aquelas realizadas por Cho *et al.* (1999)¹ ou Moon e Oh (2001)⁷. Brodtkin, Kapft e Andrade (1969)⁵⁴ que apontaram a DBC como sendo um “dosímetro” para quantificar a aparente quantidade de exposição solar na pele. Assim, sugerimos que o mesmo aconteça na exposição solar na semimucosa labial.

Embora sem significância estatística, percebe-se que a área de DBC nas lesões de QA aumentou proporcionalmente ao aumento do grau de displasia epitelial, tanto pela classificação da OMS (2017)²⁸ quanto pela classificação Binária (2006)²⁹, sugerindo que, quanto maior o tempo de exposição aos raios UV, maior é o envolvimento epitelial e também

maior o grau de DBC no tecido conjuntivo. Esses resultados são semelhantes ao estudo de Cho *et al.* (1999)¹ onde relataram haver uma quantidade de fibras elásticas presentes nessas lesões 3,65 vezes maior quando comparadas ao grupo controle, revelando que a exposição crônica à radiação solar pode interferir no metabolismo das fibras colágenas e elásticas no tecido conjuntivo. Ainda assim, os mesmos autores mostraram uma relação proporcional entre o grau de displasia epitelial com a área de fibras elásticas, sugerindo que a DBC aumenta de acordo com a quantidade de exposição à radiação UV. Ainda assim, Moon e OH (2001)⁷ evidenciaram um aumento significativo de fibras elásticas (3-4 vezes maior) em lesões de carcinoma epidermoide de pele comparadas com áreas que não sofreram radiação.

Araújo *et al.* (2007)⁸ mostraram a presença de fibras elásticas distróficas e não mais de fibras colágenas na área degenerada, provavelmente dando origem ao acúmulo de material semelhante à elastina em lesões de queratose actínica, característica também presente nas QA. Não foram encontrados estudos que avaliem especificamente a DBC em QA, no entanto, as pesquisas utilizadas como base para o atual estudo foram realizadas em doenças de pele, como a queratose actínica, e em carcinoma epidermoide de pele, e ambas avaliaram a área percentual das fibras elásticas presentes no tecido conjuntivo.

Da Silva *et al.* (2007)⁵⁶ avaliaram, em 30 casos de queratose actínica, a potencial relação entre a DBC com as alterações moleculares em células epiteliais, representadas por proteínas reguladoras de apoptose, proliferação celular e estruturais (Ki67, p53, p63, bcl-2, E-caderina, 34-betaE12 e CD99) a fim de avaliar as alterações dos queratinócitos e prever o comportamento biológico dessas lesões. Os resultados mostraram que um aumento no grau da DBC foi associado a um aumento no número de células positivas para todos os marcadores celulares, o que pode colaborar para a transformação maligna dessa doença. Em nosso estudo o grau de displasia epitelial aumentou proporcionalmente à média da área de DBC, assim, o grau de DBC poderia ser um marcador morfológico útil na avaliação de alterações neoplásicas presentes nessas lesões, sendo que o mesmo pode ocorrer nos casos de QA e CEL.

Embora não esteja claro se as alterações no tecido conjuntivo danificado ocorrem concomitantemente com a alteração das células epiteliais, os efeitos da radiação UV podem alterar o microambiente em torno do epitélio danificado e contribuir para a transformação maligna da QA. O desequilíbrio de produção de fator de crescimento das células epiteliais pode ser um passo crítico para o desenvolvimento do CEL.

Além disso, as alterações na angiogênese, composição da matriz extracelular, em células inflamatórias e na atividade das proteases podem favorecer o desenvolvimento do tumor⁵⁶. Os resultados da nossa pesquisa corroboram com esse estudo.

A ausência de significância estatística pode ser explicada pelo reduzido número da amostra, já que a maioria dos casos arquivados no LPB/UFSC são de biópsias incisionais, com fragmentos pequenos, e grande parte dos cortes não atingiam toda área da lâmina própria, sendo excluídos do estudo.

Não foram localizados na literatura trabalhos que quantificassem a DBC em lesões de QA, especificamente. Portanto, o presente estudo pode ser considerado pioneiro na utilização de um programa de imagem para mensuração da DBC em QA, sendo uma importante ferramenta para realização de futuros estudos nesse âmbito.

7. CONCLUSÃO

Observou-se que na avaliação quantitativa de DBC em QA, houve um aumento diretamente proporcional da média de porcentagem da área de DBC em relação ao grau de displasia epitelial, segundo a classificação da OMS e classificação binária, embora os resultados não sejam estatisticamente significativos. Esses resultados corroboram com o papel da radiação UV na patogênese das lesões de QA e da provável influência da DBC no processo de carcinogênese dessa doença. Esse estudo é o primeiro a realizar a quantificação objetiva da DBC nas lesões de QA e serve como base para futuros estudos nesse âmbito.

REFERÊNCIAS

- ¹CHO, C. G. et al. A study of the solar effect on actinic keratoses by quantification of elastic fibres using an image analysis system. **Acta Derm Venereol**, v. 79, n. 4, p. 278-80, Jul 1999. ISSN 0001-5555. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10429983> >.
- ²SCHUCH, A. P. et al. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. **Free Radic Biol Med**, Jan 2017. ISSN 1873-4596. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28109890> >.
- ³BEANI, J. C. [Ultraviolet A-induced DNA damage: role in skin cancer]. **Bull Acad Natl Med**, v. 198, n. 2, p. 273-95, Feb 2014. ISSN 0001-4079. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26263704> >.
- ⁴VAN LAETHEM, A. et al. The sunburn cell: regulation of death and survival of the keratinocyte. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 37, n. 8, p. 1547-53, Aug 2005. ISSN 1357-2725. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15896663> >.
- ⁵DOS SANTOS, J. N. et al. Altered cytokeratin expression in actinic cheilitis. **J Cutan Pathol**, v. 30, n. 4, p. 237-41, Apr 2003. ISSN 0303-6987. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12680953> >.
- ⁶NEVILLE, B. W. et al. Patologia oral e maxillofacial. **Elsevier**: Rio de Janeiro 2009.
- ⁷MOON, J. S.; OH, C. H. Solar damage in skin tumors: quantification of elastotic material. **Dermatology**, v. 202, n. 4, p. 289-92, 2001. ISSN 1018-8665. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11455139> >.
- ⁸ARAÚJO, C. P. et al. Estudo histológico e histoquímico da elastose solar em lesões de queilite actínica **Rev. Ciências Médicas e Biológicas**. v.6, n.2: 152-159 p. 2007.

⁹SILVERMAN, S.; EVERSOLE, L. R.; TRUELOVE, E. L. Fundamentos de Medicina Oral. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 2004. 384

¹⁰VIEIRA, R. A. et al. Actinic cheilitis and squamous cell carcinoma of the lip: clinical, histopathological and immunogenetic aspects. **An Bras Dermatol**, v. 87, n. 1, p. 105-14, 2012 Jan-Feb 2012. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22481658> >.

¹¹NEVILLE, B. W. et al. Patologia Oral e Maxilofacial. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2009.

¹²YAZDANI ABYANEH, M. A. et al. Photodynamic therapy for actinic cheilitis: a systematic review. **Dermatol Surg**, v. 41, n. 2, p. 189-98, Feb 2015. ISSN 1524-4725. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25627629> >.

¹³CAVALCANTE, A. S.; ANBINDER, A. L.; CARVALHO, Y. R. Actinic cheilitis: clinical and histological features. **J Oral Maxillofac Surg**, v. 66, n. 3, p. 498-503, Mar 2008. ISSN 1531-5053. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18280383> >.

¹⁴LOPES, M. L. et al. Clinicopathological profile and management of 161 cases of actinic cheilitis. **An Bras Dermatol**, v. 90, n. 4, p. 505-12, 2015 Jul-Aug 2015. ISSN 1806-4841. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26375219> >.

¹⁵BILAÇ, C.; ŞAHİN, M. T.; ÖZTÜRKCAN, S. Chronic actinic damage of facial skin. **Clin Dermatol**, v. 32, n. 6, p. 752-62, 2014 Nov-Dec 2014. ISSN 1879-1131. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25441468> >.

¹⁶OUHTIT, A. et al. Temporal events in skin injury and the early adaptive responses in ultraviolet-irradiated mouse skin. **Am J Pathol**, v. 156, n. 1, p. 201-7, Jan 2000. ISSN 0002-9440. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10623668> >.

¹⁷WEIHERMANN, A. C. et al. Elastin structure and its involvement in skin photoageing. **Int J Cosmet Sci**, Oct 2016. ISSN 1468-2494. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27731897> >.

¹⁸DE SANTANA SARMENTO, D. J. et al. Actinic cheilitis: clinicopathologic profile and association with degree of dysplasia. **Int J Dermatol**, v. 53, n. 4, p. 466-72, Apr 2014. ISSN 1365-4632. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24320079> >.

¹⁹DE SOUZA LUCENA, E. E. et al. Prevalence and factors associated to actinic cheilitis in beach workers. **Oral Dis**, v. 18, n. 6, p. 575-9, Sep 2012. ISSN 1601-0825. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22335283> >.

²⁰DE OLIVEIRA RIBEIRO, A.; DA SILVA, L. C.; MARTINS-FILHO, P. R. Prevalence of and risk factors for actinic cheilitis in Brazilian fishermen and women. **Int J Dermatol**, v. 53, n. 11, p. 1370-6, Nov 2014. ISSN 1365-4632. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25039599> >.

²¹SILVA F.D, et al. Estudo da Prevalência de Alterações Labiais em Pescadores da Ilha de Santa Catarina. **Revista Odonto Ciência-PUCRS**. v. 21 2006.

²²PAPALEO, C. V. Avaliação da prevalência de Queilite Actínica em triatletas. Trabalho de Conclusão de Curso - **Universidade Federal de Santa Catarina** 2016.

²³NEVILLE, B. W.; DAY, T. A. Oral cancer and precancerous lesions. **CA Cancer J Clin**, v. 52, n. 4, p. 195-215, Jul-Aug 2002. Disponível em: < http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12139232 >.

²⁴MARKOPOULOS, A.; ALBANIDOU-FARMAKI, E.; KAYAVIS, I. Actinic cheilitis: clinical and pathologic characteristics in 65 cases. **Oral Diseases**, v. 10, n. 4, p. 212-216, 2004. ISSN 1601-0825. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-0825.2004.01004.x> >.

²⁵ARNAUD, R. R. et al. Queilite actínica: avaliação histopatológica de 44 casos. **Rev. Odontol Unesp**: 384-389 p. 2014.

²⁶PIÑERA-MARQUES, K. et al. Actinic lesions in fishermen's lower lip: clinical, cytopathological and histopathologic analysis. **Clinics (Sao**

Paulo), v. 65, n. 4, p. 363-7, Apr 2010. ISSN 1980-5322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20454492> >.

²⁷KAUGARS, G. E. et al. Actinic cheilitis: a review of 152 cases. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 88, n. 2, p. 181-6, Aug 1999. ISSN 1079-2104. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10468463> >.

²⁸MÜLLER, S. Update from the 4th Edition of the World Health Organization of Head and Neck Tumours: Tumours of the Oral Cavity And Mobile Tongue. **Head and Neck Pathology**. 11: 33–40 p. 2017.

²⁹KUJAN, O. et al. Evaluation of a new binary system of grading oral epithelial dysplasia for prediction of malignant transformation. **Oral Oncol**, v. 42, n. 10, p. 987-93, Nov 2006. ISSN 1368-8375. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16731030> >.

³⁰PINDBORG, J. J. et al. The calcifying epithelial odontogenic tumor. A review of recent literature and report of a case. **APMIS Suppl**, v. 23, p. 152-7, 1991. ISSN 0903-465X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1883639> >.

³¹MACFARLANE, G. E.; TEREZHALMY, G. T. Actinic cheilitis. Diagnosis, prevention, and treatment. **US Navy Med**, v. 73, n. 6, p. 22-4, Jun 1982. ISSN 0364-6807. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6983788> >.

³²KEIM, F. S.; MARTINS JR, J. C. Carcinoma espinocelular "in situ" de lábio inferior, vermelhctomia como opção de tratamento: relato de caso. **Rev. Bras. Cir. Cabeça Pescoço**. v.41, nº 4: p. 200-202 p. 2012.

³³MCDONALD, C. et al. Treatment of actinic cheilitis with imiquimod 5% and a retractor on the lower lip: clinical and histological outcomes in 5 patients. **Br J Oral Maxillofac Surg**, v. 48, n. 6, p. 473-6, Sep 2010. ISSN 1532-1940. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19836865> >.

³⁴YU, A. et al. Association between the clinical and histopathological classifications of actinic keratosis and the efficacy of topical imiquimod treatment. **J Dermatol**, Dec 2017. ISSN 1346-8138. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29265412> >.

- ³⁵BERKING, C. et al. The efficacy of photodynamic therapy in actinic cheilitis of the lower lip: a prospective study of 15 patients. **Dermatol Surg**, v. 33, n. 7, p. 825-30, Jul 2007. ISSN 1524-4725. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17598848> >.
- ³⁶KODAMA, M. et al. Photodynamic therapy for the treatment of actinic cheilitis. **Photodermatol Photoimmunol Photomed**, v. 23, n. 5, p. 209-10, Oct 2007. ISSN 0905-4383. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17803601> >.
- ³⁷ULRICH, C. et al. Management of actinic cheilitis using diclofenac 3% gel: a report of six cases. **Br J Dermatol**, v. 156 Suppl 3, p. 43-6, May 2007. ISSN 0007-0963. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17488406> >.
- ³⁸FLÓREZ, Á.; BATALLA, A.; DE LA TORRE, C. Management of actinic cheilitis using ingenol mebutate gel: A report of seven cases. **J Dermatolog Treat**, v. 28, n. 2, p. 149-151, Mar 2017. ISSN 1471-1753. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27241280> >.
- ³⁹BARRADO SOLÍS, N. et al. Ingenol mebutate gel treatment for actinic cheilitis: report of four cases. **Dermatol Ther**, v. 28, n. 2, p. 79-82, 2015 Mar-Apr 2015. ISSN 1529-8019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25545762> >.
- ⁴⁰LUNA-ORTIZ, K. et al. Lip cancer experience in Mexico. An 11-year retrospective study. **Oral Oncol**, v. 40, n. 10, p. 992-9, Nov 2004. ISSN 1368-8375. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15509490> >.
- ⁴¹REGEZI, J. A.; SCIUBBA, J. J.; JORDAN, R. C. K. Patologia Oral: Correlações clinicopatológicas. 5. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2008. 420
- ⁴²ANTUNES, A. A.; ANTUNES, A. P. Lips' tumours retrospective study and literature review: a twenty-eight-year experience. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 50, n. 4, p. 295-300, 2004.
- ⁴³SILVA, F. D. et al. Prevalence of Lips Pathologies in Fishermen Of Santa catarina Island. **Revista Odonto Ciência**, v. 21, n. 51, p. 37 - 42, 2006.

⁴⁴ANNEROOTH, G.; BATSAKIS, J.; LUNA, M. Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. **Scand J Dent Res**, v. 95, n. 3, p. 229-49, Jun 1987. ISSN 0029-845X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3299675> >.

⁴⁵DE ARAÚJO, V. C. et al. p53 In biopsies of oral squamous cell carcinoma. A comparative study with a malignancy grading system. **Oral Oncol**, v. 33, n. 1, p. 5-9, Jan 1997. ISSN 1368-8375. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9192545> >.

⁴⁶BARNES, L., EVERSON, J.W., REICHART, P., SIDRANSKY, D. Pathology and genetics of head and neck tumours. **Lyon: IARC Press**, 2005. 327

⁴⁷LOURENÇO, S. Q. C. et al. Classificações Histopatológicas para o Carcinoma de Células Escamosas da Cavidade Oral: Revisão de Sistemas Propostos. **Revista Brasileira de Cancerologia**. 53(3): 325-333 p. 2007.

⁴⁸GUTIÉRREZ-PASCUAL, M. et al. Squamous cell carcinoma of the lip. A retrospective study of 146 patients. **J Eur Acad Dermatol Venereol**, v. 26, n. 9, p. 1116-21, Sep 2012. ISSN 1468-3083. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21923660> >.

⁴⁹SOUZA FREITAS, V. et al. Mast cells and matrix metalloproteinase 9 expression in actinic cheilitis and lip squamous cell carcinoma. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 112, n. 3, p. 342-8, Sep 2011. ISSN 1528-395X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21612954> >.

⁵⁰BIANCO, B. C. et al. Immunohistochemical expression of matrix metalloproteinase-1, matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9, myofibroblasts and Ki-67 in actinic cheilitis and lip squamous cell carcinoma. **Int J Exp Pathol**, v. 96, n. 5, p. 311-8, Oct 2015. ISSN 1365-2613. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26515234> >.

⁵¹GONÇALVES, A. S. et al. Relevance of HLA-G, HLA-E and IL-10 expression in lip carcinogenesis. **Hum Immunol**, v. 77, n. 9, p. 785-90,

Sep 2016. ISSN 1879-1166. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26723902> >.

⁵²LEWIS, K. G. et al. Acquired disorders of elastic tissue: Part I. Increased elastic tissue and solar elastotic syndromes. **American Academy of Dermatology** 2004.

⁵³SUWABE, H. et al. Degenerative processes of elastic fibers in sun-protected and sun-exposed skin: immunoelectron microscopic observation of elastin, fibrillin-1, amyloid P component, lysozyme and alpha1-antitrypsin. **Pathol Int**, v. 49, n. 5, p. 391-402, May 1999. ISSN 1320-5463. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10417681> >.

⁵⁴BRODKIN, R. H.; KAPFT, A. W.; ANDRADE, R. Basal cell epithelioma and elastosis: A comparison of distribution. **Oxford: Pergammon Press**: 581-617 p. 1969.

⁵⁵CORBALÁN-VÉLEZ, R. et al. [Solar elastosis in cutaneous squamous cell carcinoma]. **Actas Dermosifiliogr**, v. 101, n. 6, p. 517-23, Jul 2010. ISSN 1578-2190. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20738970> >.

⁵⁶DA SILVA, T. A. et al. Expression of apoptotic, cell proliferation regulatory, and structural proteins in actinic keratosis and their association with dermal elastosis. **J Cutan Pathol**, v. 34, n. 4, p. 315-23, Apr 2007. ISSN 0303-6987. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17381802> >.

⁵⁷A.M.O, M.; T.M, F.; T.L.L, C. Queilite Actínica: aspectos clínicos e prevalência encontrados em uma população rural no interior do Brasil. **Revista Saúde e Pesquisa**. 4(1): 67-72 p. 2011.

⁵⁸MIRANDA, A. M. et al. Prevalence of actinic cheilitis in a population of agricultural sugarcane workers. **Acta Odontol Latinoam**, v. 25, n. 2, p. 201-6, 2012. ISSN 0326-4815. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23230642> >.

⁵⁹MARTINS-FILHO, P. R.; DA SILVA, L. C.; PIVA, M. R. The prevalence of actinic cheilitis in farmers in a semi-arid northeastern region of Brazil. **Int J Dermatol**, v. 50, n. 9, p. 1109-14, Sep 2011. ISSN

1365-4632. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22126872> >.

⁶⁰CAREY, F. A.; HOGAN, J. M. The relationship of sun exposure and solar elastosis to skin cancer in a high risk population. **Ir J Med Sci**, v. 159, n. 2, p. 44-7, Feb 1990. ISSN 0021-1265. Disponível em: <
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2347678> >.

ANEXO A – Ata de Apresentação do Trabalho de Conclusão de Curso



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE ODONTOLOGIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

— ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO —

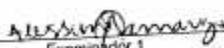
Aos 24 dias do mês de Maio de 2018, às 8:00 horas, em sessão pública no (s) Auditório desta Universidade, na presença da Banca Examinadora presidida pelo Professor Élize Modolo Siquiera e pelos examinadores:

- 1- Alessandra Rodrigues de Camargo
 - 2- Eliane Rich Correa Bivero
- o aluno Diego de Souza

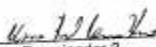
apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado: Associação do grau de regeneração histológica do colágeno em queratina cutânea como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a Integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela APROVAÇÃO do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.



Presidente da Banca Examinadora



Examinador 1



Examinador 2



Aluno

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER CONEP BIOBANCO Nº. 031/2015

Registro CONEP B-051 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este biobanco)

Processo nº 25000.237810/2014-54

Instituição responsável: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)

Instituições participantes: ---

Responsável(is) institucional(is): Dra. Elena Riet Correa Rivero

CEP de origem: Universidade Federal de Santa Catarina

Sumário geral do protocolo

Tipo de material biológico: tecido, células, sangue, saliva

Regimento interno:

- Quanto à composição dos membros responsáveis pelo biobanco: A composição dos membros responsáveis pelo *Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC (LPB/UFSC)* seguirá as seguintes recomendações: Um docente coordenador e um sub-coordenador com reconhecida experiência em desenvolvimento de pesquisa, pertencentes ao Departamento de Patologia da UFSC e que sejam membros permanentes do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFSC. O coordenador e o sub-coordenador serão escolhidos pelos docentes do Departamento de Patologia da UFSC que forem membros permanentes do Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFSC, escolhidos por votação, durante reunião específica para esse fim. A duração do mandato do coordenador e do sub-coordenador do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC será de 2 anos, podendo os mesmos serem reconduzidos. A escolha será feita pelos membros do departamento de Patologia que forem credenciados como membros permanentes ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da UFSC.

- Quanto à captação das amostras biológicas e potenciais consentidores: Os potenciais consentidores de material biológico ao Biobanco serão indivíduos que tiverem alguma lesão no complexo buco-maxilo-facial ou região de cabeça e pescoço, em que foi necessário procedimento de biópsia ou remoção completa da lesão para estabelecimento do diagnóstico definitivo ou tratamento, cujo material tenha sido processado e o laudo liberado pelo Laboratório de Patologia Bucal da UFSC. O potencial voluntário será abordado no momento da biópsia, pela pessoa responsável pelo ato cirúrgico, explicando quais os objetivos para o armazenamento de seu material.

- Quanto ao sigilo e confidencialidade das amostras coletadas e dos dados dos consentidores: Quando o material chegar ao LPB, será devidamente identificado, recebendo um número de registro do laboratório. Para aqueles que aceitarem que seu material biológico seja armazenado no Biobanco do LPB-UFSC, após o estabelecimento do diagnóstico definitivo, o material será cadastrado junto ao Biobanco, mantendo o mesmo número de cadastro do LPB, para fins de localização dos blocos de parafina e lâminas histológicas. Será feito um banco de dados dos casos cadastrados com os dados referentes ao participante (sexo, idade, profissão), assim como dados referentes à lesão (localização, tamanho, tempo de evolução). Esses dados serão colhidos à partir da ficha de biópsia, que será preenchida pelo profissional que executa o procedimento. Os blocos de parafina e as lâminas histológicas receberão o número de cadastro do biobanco e serão armazenados(as) num HISTOFILÉ, o qual é um arquivo de aço, próprio para essa finalidade para uso futuro em projetos de pesquisa. O material criopreservado será armazenado em freezer -80°C. Somente o material dos participantes que aceitarem participar será cadastrado junto ao Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC. Após esse cadastro, os dados clínicos do caso, referentes ao participante (sexo, idade, profissão), assim como dados referentes a lesão (localização, tamanho, tempo de evolução) serão cadastrados junto ao banco de dados do Biobanco.

- Quanto à transferência de material biológico humano do gerente do biobanco para o pesquisador: A transferência temporária das amostras e de informações associadas ao pesquisador é feita através de Termo de Transferência de Material Biológico. As amostras somente serão cedidas ao pesquisador, após apresentação do parecer de aprovação do protocolo de pesquisa pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC (CEP-UFSC) ou Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). É vedado o acesso ao material por pesquisadores que não estejam formalmente vinculados à equipe de pesquisa do referido projeto de pesquisa. Após o término dos procedimentos laboratoriais, o pesquisador responsável pela pesquisa deverá imediatamente proceder a devolução dos espécimes ao Biobanco do LPB-UFSC. As amostras provenientes de material emblocado em parafina apenas poderão ser utilizadas se houver material biológico suficiente para manter as mesmas arquivadas por um período de 5 anos (considerando a data de entrada no LPB). Após esse período as mesmas poderão ser utilizadas até a sua finalização.

- Quanto ao uso e descarte do material biológico armazenado: Todos os projetos de pesquisa, que planejem utilizar material armazenado no Biobanco, elaborados na UFSC ou em outras Instituições deverão ser encaminhados ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFSC para avaliação e aprovação. A princípio todo material coletado será usado em pesquisa até que termine, porém caso seja necessário descartá-lo por razões de estocagem ou espaço, serão encaminhados para o Serviço de Anatomia Patológica do Hospital Universitário da UFSC, para ser recolhido pela empresa Pró-Activa. Além disso, conforme preconizado na Resolução CNS nº 441 de 2011, item 8, os participantes serão notificados sobre perda ou destruição de suas amostras, bem como sobre o encerramento do biobanco. O descarte do material biológico humano armazenado em Biobanco poderá ocorrer:

- a) pela manifesta vontade do sujeito da pesquisa;
- b) devido à inadequação da amostra por critérios de qualidade;
- c) por iniciativa da instituição; e
- d) pela dissolução do Biobanco.

Conf. Parecer CONEP nº. 001/2016

Nas hipóteses previstas nas alíneas "c" e "d", são obrigatórias:

- a) a oferta formal do material armazenado a, no mínimo, duas instituições de pesquisa que possuam Biobanco e a apresentação comprovada da recusa; e
- b) a submissão da decisão institucional e da destinação do material biológico ao CEP, que as encaminhará para avaliação da CONEP.

Procedimentos operacionais padrão: Os procedimentos operacionais padrão foram apresentados, de acordo com a solicitação do checklist, Anexo II da Norma Operacional MS nº 001 de 2013, abordando os tópicos: coleta, processamento, armazenamento e distribuição.

Documentos encaminhados para análise: 1. Regimento Interno; 2. Procedimentos Operacionais Padrão (POP); 3. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) Versão 02/2014 – Anexo A; 4. Termo de Assentimento Versão 02/2014; 5. Ofício de encaminhamento dos documentos do CEP para a CONEP; 6. Termo de Responsabilidade Institucional; 7. Identificação dos responsáveis pelo biobanco; 8. Ficha de cadastro das amostras; 9. Termo de Transferência de Material Biológico (TTMB); 10. Declaração de cumprimento da Resolução CNS nº 441 de 2011 e da Portaria MS nº 2.201 de 2011; 11. Declaração de compromisso de envio de relatório de atividades; 12. Parecer para Regularização do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC; 13. Ata da Reunião do dia 22/09/2014 do CEP da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Comentários/Considerações

1 – Quanto ao "Regimento Interno – Versão 02/2014", documento intitulado "4 – Regimento Interno":

- a) Na página 2 de 6, "CAPÍTULO I - DA NATUREZA E FINALIDADE DO BIOBANCO", lê-se: "Art. 1º - O Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina (Biobanco do LPBUFSC) foi criado pelo Departamento de Patologia da UFSC em reunião de XXXDATAXXXX em cumprimento ao disposto na Resolução 441/11, do Conselho Nacional de Saúde (CNS), do Ministério da Saúde.". Solicita-se o preenchimento do trecho em branco, informando no parágrafo a data da reunião de criação do biobanco.
- b) Na página 3 de 6, "CAPÍTULO V – DO MANDATO DOS MEMBROS DO BIOBANCO", lê-se: "Art. 6º - A duração do mandato do coordenador e o sub-coordenador do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal da UFSC será de 2 anos, podendo os mesmos serem reconduzidos.". Deve ser acrescentada a informação de que quando houver alteração da titularidade da responsabilidade pelo Biobanco, tal fato deverá ser prontamente comunicado ao Sistema CEP/CONEP, conforme preconizado na Resolução CNS nº 441 de 2011, item 3.IV. Solicita-se adequação.
- c) Na página 4 de 6, "CAPÍTULO VIII - COLETA E ARMAZENAMENTO DE MATERIAL DE ORIGEM HUMANA, Artigo 11", lê-se: "§ 1º Os blocos de parafina e as lâminas histológicas receberão o número de cadastro do biobanco e serão armazenados(as) num HISTOFILE, o qual é um arquivo de aço, próprio para essa finalidade para uso futuro em projetos de pesquisa.". No documento deverá constar a informação de que o sigilo e a confidencialidade do consentidor serão garantidos, sendo apresentados os processos de codificação e decodificação

Conf. Parecer CONEP nº. 031/2016

e as políticas de segurança com níveis de permissão diferenciados e formas de evitar a identificação do consentidor por pessoal não autorizado. Solicita-se adequação (Portaria MS nº 2.201 de 2011, Capítulo IV, Seção III, Artigo 23, Parágrafo 2º).

- d) Caso exista previsão de participação de outras instituições envolvidas na constituição do referido biobanco, deve ser apresentado um acordo entre as instituições participantes envolvidas, contemplando operacionalização, compartilhamento, utilização do material biológico humano armazenado e a possibilidade de dissolução futura da parceria, partilha e destinação dos dados e materiais armazenados, de acordo com a Resolução CNS nº 441 de 2011, item 13. Solicita-se a apresentação da documentação pertinente. Adicionalmente, ressalta-se que amostras provenientes de outras instituições deverão estar acompanhadas do TCLE do consentidor e do termo de transferência de responsabilidades.

2 – Quanto ao “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – Versão 02/2014”, documento intitulado “TCLE + assentimento”, Anexo A, páginas 1 e 2:

- a) Na página 1 de 4, item “Benefícios”, lê-se: “o material armazenado irá possibilitar futuros trabalhos de pesquisa, dentro da linha com o objetivo de entender melhor os processos que levam ao aparecimento das doenças.”. O TCLE deve informar ao consentidor que não somente as amostras biológicas, mas também os dados fornecidos, coletados e obtidos a partir de pesquisas poderão ser utilizados nas pesquisas futuras (Resolução CNS nº 441 de 2011, item 5d). Solicita-se adequação.
- b) Na página 1 de 4, item “Manutenção da privacidade e garantia da retirada do consentimento e material biológico”, lê-se: “O participante, ou seu representante legal, tem a garantia de retirar o seu consentimento de guarda da amostra biológica, a qualquer tempo, sem qualquer prejuízo.”. Solicita-se escrever no TCLE que caso o participante queira retirar seu consentimento, isso deverá ser formalizado por meio de uma manifestação, por escrito e assinada pelo consentidor ou seu representante legal (Resolução CNS nº 441 de 2011, item 10.I).
- c) Conforme Resolução CNS nº 441 de 2011, item 11, o prazo de armazenamento de material biológico humano em Biobanco é indeterminado, sendo a manutenção de seu credenciamento subordinada ao atendimento das normas vigentes. Solicita-se acrescentar esta informação no TCLE.
- d) Na página 1 de 4, item “Manutenção da privacidade e garantia da retirada do consentimento e material biológico”, lê-se: “Caso haja transferência do material biológico armazenado entre BIORREPOSITÓRIOS ou biobancos, desta ou de outra instituição, o participante será prontamente comunicado e poderá optar por manter ou não sua amostra armazenada.” (destaque nosso). Solicita-se a retirada do termo em destaque “entre biorrepositórios” deste trecho e sua adequação, uma vez que, em se tratando esta análise de um Protocolo de Desenvolvimento de Biobanco, pode ser prevista apenas a transferência entre biobancos ou de um biorrepositório para um biobanco.
- e) Na página 1 de 4, item “Meios de contato”, lê-se: “Poderá também contatar o

Com. Parecer CONEP nº. 031/2016

Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFSC, pelo telefone (48) 37219206." Solicita-se que sejam incluídos no TCLE uma breve descrição do que é o CEP, qual sua função no estudo, seu endereço e horário de funcionamento (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d).

- f) Na página 1 de 4, item "Outras informações", lê-se: "Ao assinar esse documento o participante receberá uma COPIA do mesmo, assinado e rubricado em todas as páginas pelo(s) responsável(eis) pelo biobanco." (destaque nosso). Deve ser informado que o TCLE será elaborado em duas vias, e não cópias, sendo uma retida pelo biobanco e a outra com o consentidor. Cabe lembrar que, caso exista mais de uma página, o TCLE deverá ser rubricado em todas as páginas pelo consentidor ou seu responsável, assim como pelo responsável pelo biobanco ou pessoa por ele delegada (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens IV.3.f; IV.5.d). Solicita-se adequação.
- g) Na página 2 de 4, lê-se: "Material Doado". Ressalta-se que o material biológico humano armazenado em biobanco pertence ao consentidor, cabendo à instituição sua guarda e gerenciamento. Sendo assim, o termo "doado" e correlatos (por exemplo: "doador", "doação", "doadores", "doar", "doações") deverão ser substituídos por termos como "cessão", "ceder", "cedição" e "consentidor" (Resolução CNS nº 441 de 2011, item 9 e Portaria MS nº 2201 de 2011, Artigo 26, Seção III). Adequar documento.

3 – Quanto à Ata de Reunião do CEP da UFSC, datada de 22/09/2014 e assinada pelo coordenador do CEP, Prof. Washington Portela de Souza: observa-se que não foi enviado para análise da CONEP o Parecer do CEP da Instituição de origem, aprovando este Protocolo de Desenvolvimento. Há apenas a informação de que o Colegiado do CEP aprovou o parecer dos relatores. Solicita-se adequação.

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Resolução CNS nº 441 de 2011, manifesta-se por aguardar o atendimento às questões acima para emissão de seu parecer final.

Situação: Protocolo de Desenvolvimento de Biobanco com pendência.

Cont. Parecer CONEP nº. 031/2016

De acordo com a Resolução CNS 486/2012 e Norma Operacional Nº 001/2013 do Conselho Nacional de Saúde, as pendências devem ser respondidas exclusivamente pelo responsável institucional no prazo de 30 dias, a partir da data de envio do parecer pela CONEP. Após esse prazo o protocolo será arquivado. A resposta do responsável institucional deve ser avaliada pelo CEP com a emissão de parecer consubstanciado e, se aprovada, deve ser encaminhada à CONEP. Solicita-se ainda que as respostas sejam enviadas de forma ordenada, conforme os itens das considerações deste parecer, indicando-se também a localização das possíveis alterações no protocolo, inclusive no TCLE.

Brasília, 07 de Outubro de 2015.



JORGE ALVES DE ALMEIDA VENÂNCIO
COORDENADOR DA CONEP/CNS/MS

ANEXO C – Parecer substanciado

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO GRAU DE DEGENERAÇÃO BASOFLICA DO COLÁGENO EM QUEILITE ACTÍNICA E CARCINOMA EPIDERMÓIDE DE LÁBIO

Pesquisador: Filipe Modolo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 67843617.8.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.079.145

Apresentação do Projeto:

Trata o presente projeto, intitulado "Avaliação do grau de degeneração basofílica do colágeno em queilite actínica e carcinoma epidermóide de lábio", de uma pesquisa submetido pelo Prof. Dr. Filipe Modolo, que assina a folha de rosto como pesquisador responsável juntamente com o Prof. Rodrigo Otávio Alves de Lima, subchefe do Departamento de Patologia/CCS/UFSC. O estudo proposto é do tipo observacional descritivo retrospectivo. Pretende-se avaliar a área de degeneração basofílica do colágeno e comparar com o grau de alteração de células epiteliais em lesões de queilite actínica (QA) e câncer epidermóide de lábio (CEL), duas doenças fortemente relacionadas a exposição solar crônica e, por isso, apresentam grande relevância no Brasil, um país tropical com elevada incidência de radiação UV e elevada exposição populacional a essa radiação. Esta pesquisa utilizará uma amostra de conveniência proveniente do acervo do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal (LPB/UFSC), Registro CONEP B- 051, do qual serão selecionados 30 casos de QA e até 30 casos de CEL de pacientes maiores de 18 anos. As amostras selecionadas serão analisadas histologicamente. Como preconizado pela Resolução 441/2011, o proponente incluiu na proposta a cópia do TCLE empregado quando da coleta do material, bem como um TCLE específico para a presente pesquisa. Incluiu também o Parecer CONEP Biobanco 031/2015, que trata do registro do Biobanco do Laboratório de Patologia Bucal (Registro CONEP B- 051).

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria II, R: Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
 UF: SC Município: FLORESÓPOLIS
 Telefone: (48)3721-8394 E-mail: cep.propoeaq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 2.079-145

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_311129.pdf	28/04/2017 18:01:52		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_biobanco.pdf	28/04/2017 15:59:41	Filipe Modolo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Parecer_Biobanco_031_2015.pdf	28/04/2017 15:58:17	Filipe Modolo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	28/04/2017 15:56:57	Filipe Modolo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	AVALIACAO_DO_GRAU_DE_DEGENE RACAO_BASOFILICA.pdf	28/04/2017 15:56:27	Filipe Modolo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracao_da_instituicao.pdf	28/04/2017 15:55:48	Filipe Modolo	Aceito
Folha de Rosto	FOLHDEROSTOASSINADA.pdf	28/04/2017 15:51:17	Filipe Modolo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Neecessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria 3, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
 Telefone: (48)3721-6204 E-mail: cep.propesq@contato.ufsc.br

Continuação do Parecer: 2.078-145

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências ou inadequações.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_911129.pdf	28/04/2017 16:01:52		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle_biobanco.pdf	28/04/2017 15:59:41	Filipe Modolo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Parecer_Biobanco_031_2015.pdf	28/04/2017 15:58:17	Filipe Modolo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	28/04/2017 15:56:57	Filipe Modolo	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	AVALIACAO_DO_GRAU_DE_DEGENE RACAO_BASOFILICA.pdf	28/04/2017 15:56:27	Filipe Modolo	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	declaracao_da_instituicao.pdf	28/04/2017 15:55:48	Filipe Modolo	Aceito
Folha de Rosto	FOLHDEROSTOASSINADA.pdf	28/04/2017 15:51:17	Filipe Modolo	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Prédio Reitoria 3, R. Dombenbrogdor Vitor Lima, nº 222, sala 401
 Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
 UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
 Telefone: (48)3721-6394 E-mail: cep.propoes@contato.ufsc.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



Continuação do Processo: 2.079/145

FLORIANOPOLIS, 24 de Maio de 2017

Assinado por:
Ylmar Correa Neto
(Coordenador)

Endereço: Universidade Federal de Santa Catarina, Praça Reitoria 8, R. Desembargador Vitor Lima, nº 222, sala 401
Bairro: Trindade CEP: 88.040-400
UF: SC Município: FLORIANOPOLIS
Telefone: (41)3721-6334 E-mail: cnp.propesq@contato.ufsc.br

